

# ビール醸造におけるホップの品種特有香に寄与する 香気成分とその相互作用

著者	蛸井 潔
号	47
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	農第757号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/60217">http://hdl.handle.net/10097/60217</a>

たこい きよし

氏名（本籍地） 蛸 井 潔

学 位 の 種 類 博士（農学）

学 位 記 番 号 農第 757 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 23 年 3 月 3 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 2 項

論 文 題 目 ビール醸造におけるホップの品種特有香に寄与する香気成分とその相互作用

博士論文審査委員 （主査）教 授 桑 原 重 文

教 授 宮 澤 陽 夫

教 授 山 下 ま り

# 論文内容要旨

## 【はじめに】

ホップはビールに特有の苦味と芳香を付与する原料である。近年、世界的なクラフトビール（地ビール）のブームを背景に、より特徴的、個性的な香りのホップが育成されるようになってきたが、ホップの品種ごとの香りの違いに寄与する香気成分を体系的に解明した研究はまだ少なく、ホップ由来香気成分のビール醸造中における挙動も未解明な点が多い。そのため、ホップをビールにした場合の香気を確認するには、実際にビールを醸造する、という経験的手段に頼っているのが現状であった。

また、微量香気成分の分析技術の発達で、分析から得られる情報量は飛躍的に増加したものの、検出される香気成分の寄与度、特に複数の香気成分の相互作用の影響を適切に評価できる評価系についても、報告例は多くはなかった。

本研究においては、それぞれに特徴的な香気をビールに付与するホップ、Nelson Sauvin、Citra の品種特有香に寄与する成分を探索し、さらには探索した香気成分の相互作用に着目した官能評価で、それらのビール香気への寄与メカニズムの解明を試みた。

## 【Nelson Sauvin ホップの特有香の解析】

ニュージーランド産の Nelson Sauvin (NNS)ホップは独特の柑橘系、白ワイン（ソーヴィニオンブランワイン）様のフルーティな香気をビールに付与することが知られている。しかし、その香気を担う成分については、これまで解明されていなかった。

我々は、NNS ホップに特異的な成分を探索するため、対照としてビールの香り付けに広く用いられているチェコ産のファインアロマホップ Saaz (CSA)を用いた試験醸造を行ない、CSA にはなく NNS にのみ検出される成分の探索を試みた。その結果、NNS ホップおよび試験醸造サンプルの分析より、イソ酪酸エステル類(2-Methylbutyl isobutyrate (2MIB)など)および極めて低い閾値を示すチオール類 3-Sulfanyl-4-methylpentan-1-ol (3S4MP)、3-Sulfanyl-4-methylpentyl acetate (3S4MPA)を同定した(図 1)。このうち 3S4MP、3S4MPA はこれまでに報告例がなく、CAS にも登録のない新規物質であった。

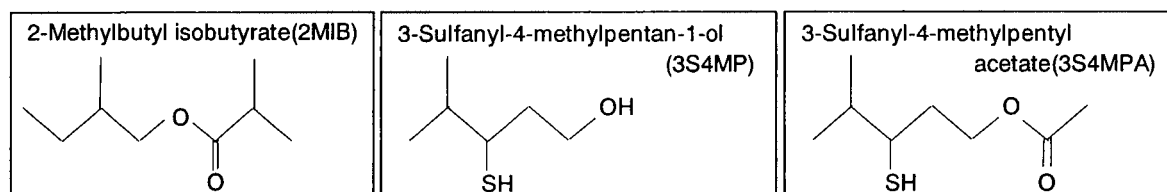


図 1 Nelson Sauvin ホップおよび試験醸造サンプル中より見出された香気成分

2MIB は青りんご、あんず様のフルーティな香気を有しており、主に高 $\alpha$ 酸ホップに多く含まれる成分で、過去にはホップ香を強調したビールでの検出例があり、ビールのシトラスな香気に寄与しているとの報告もある。新規なチオール 3S4MP および 3S4MPA は、ソーヴィニオンブランワインの特有香の成分 3-Sulfanylhexasan-1-ol と特徴の近いグレープフルーツ様の香気を有していた。3S4MP は原料ホップに含まれており、品種間の比較では NNS ホップのみに特異的に含まれていた。3S4MPA はホップ中の含量は少なく NNS ホップを使用した発酵中に 3S4MP から生成しているものと推察された。

次に、これらの成分の閾値を、ビールを模したモデル溶液（炭酸ガスを含む 5% EtOH 溶液）および市販のビールを用いて官能検査で推定した。その結果、3S4MP はモデル液中で 40 ng/L と非常に低い閾値を示し、また試験醸造サンプル中に閾値の約 2 倍含まれていた。それに対し、3S4MPA、2MIB の含量は閾値以下であった（表 1）。

表 1 各成分の推定閾値および試験醸造サンプル中での含量比較

	3S4MP(ng/L)	3S4MPA(ng/L)	2MIB(ng/L)
モデル溶液(※1)中での推定閾値	40	120	57000
市販品(※2)中での推定閾値	70	160	78000
試験醸造サンプル中での含量	93~138	0~25	2300~5400

※1：5% EtOHをカーボネーションしたモデル溶液 ※2：市販のビール

ここで、最も閾値の低い 3S4MP をキー成分とみなし、閾値量の 3S4MP (40 ng/L)を含むモデル溶液を対照区、同量の 3S4MP に加え試験醸造サンプル中の存在量程度の 3S4MPA (20 ng/L)、2MIB (5000 ng/L)を含むモデル溶液を試験区として 3 点試験法の官能検査を行なった。その結果、閾値量以下の 3S4MPA、2MIB を含む試験区が有意に識別された (表 2)。この結果より、単独では識別できない閾値以下の量の 3S4MPA、2MIB の香気が 3S4MP の共存によりエンハンスされたものと推察した。

表 2 各成分の相互作用の検討

モデル液(5% v/vエタノール,炭酸ガス含有)		3点試験法	
試験	対照	正解者/全パネル	p
40 ng/L 3S4MP	40 ng/L 3S4MP	8/10	0.01
+ 20 ng/L 3S4MPA			
40 ng/L 3S4MP	40 ng/L 3S4MP	7/10	0.05
+ 5000 ng/L 2MIB			
40 ng/L 3S4MP	40 ng/L 3S4MP	7/10	0.05
+ 20 ng/L 3S4MPA			
+ 5000 ng/L 2MIB			

※3S4MP添加量はモデル液中での3S4MPの推定閾値。3S4MPA、2MIBの添加量は製品中濃度に準じる。

さらに、モデル溶液を用い、試験醸造サンプル中の存在量程度の 3S4MP (120 ng/L)、3S4MPA (20 ng/L)、2MIB (5000 ng/L)の組合せによる香気プロファイルと比較したところ、3S4MP 単独の場合に比べ、3S4MPA または 2MIB との共存ではフラワリー、フルーティの特徴が、3 成分の共存では各 2 成分の組合せよりさらにプロファイルの変化が大きくなることが確認された (図 2)。これらの結果より、NNS ホップの柑橘系、ソーヴィニオンブランワイン様の特有の香気には、これらの香気成分が相互に影響し合って寄与しているものと推察された。

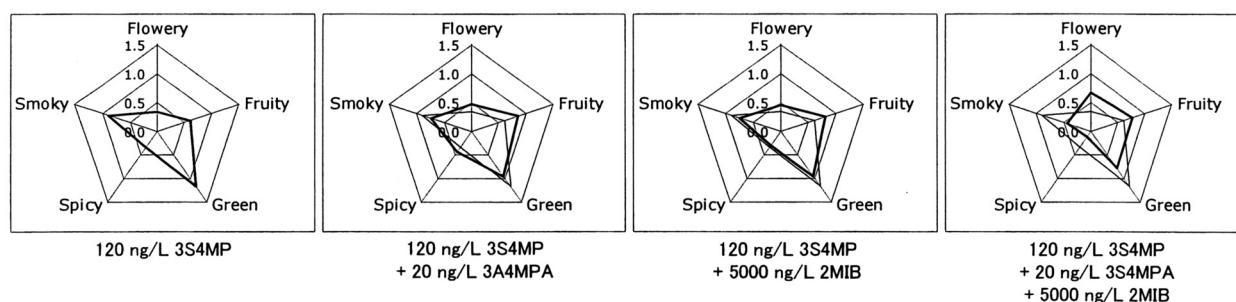


図 2 モデル溶液中での香気プロファイルの比較 (細線は 3S4MP 単独のプロファイル)

## [Citra ホップの特有香の解析]

ホップの精油成分の大部分は Myrcene、Humulene などの炭化水素系テルペン類だが、これらは疎水性、揮発性が高くビールの製造工程 (麦汁煮沸や発酵) で系外に揮発・吸着等されビール中への移行率が低い。一方、水溶性の高いテルペンアルコールはビールまでの移行率が高く、その中でも Linalool は一般的にホップ香の指標とされている。しかし、Linalool 以外のテルペンアルコール (Geraniol など) のビールの香りへの寄与についてはこれまで十分に検討されていなかった。

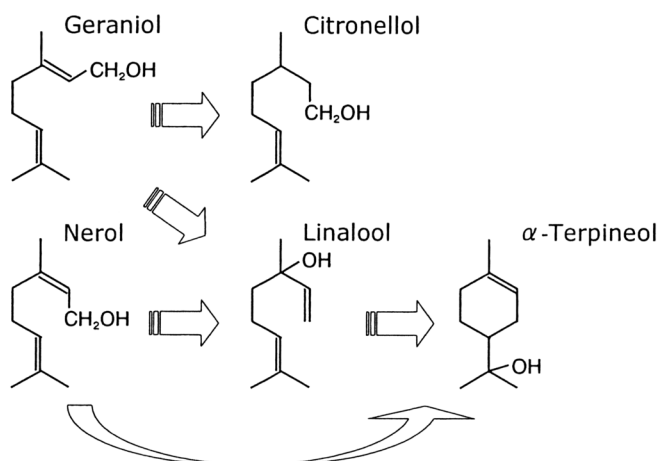


図3 ビール酵母によるテルペンアルコールの代謝経路

酵母の代謝研究から、ビール酵母はテルペンアルコールを図3のような経路で変換するとされ、特に Geraniol→Citronellol の変換は進みやすいとされている。この代謝経路を実際のホップを用いたビール醸造の系で検証するため、テルペンアルコール含量のバランスの異なる3品種のホップ（Hallertauer Tradition (HHT)、9702A、9803A）を用い、発酵での挙動を追跡した（図4）。

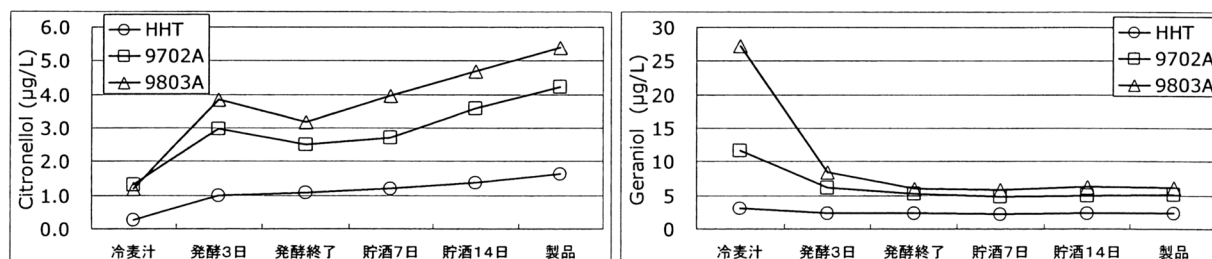


図4 ビールの発酵過程でのテルペンアルコール挙動（HHT、9702A、9803A）

Geraniol は初発の含量に関わらず発酵初期に激減すること、Citronellol は発酵前にはほとんど含まれず発酵の全期間を通じて漸増することが確認された。ここで、9702A、9803A を用いた製品ビールの香気には Linalool（香気：ラベンダー様）だけでは説明しきれない柑橘系のニュアンスが感じられたため、その香気に Citronellol（ライム様）や Geraniol（バラ様、シトラス）が関与している可能性を考え、これらの成分間の相互作用の有無について官能検査で検討した（表3）。

表3 各成分の相互作用の検討

モデル液(5% v/vエタノール,炭酸ガス含有)		3点試験法	
試験	対照	正解者/全パネル	p
3 μg/L Linalool	3 μg/L Linalool	10/12	0.001
+ 5 μg/L Geraniol	3 μg/L Linalool	5/12	-
3 μg/L Linalool	3 μg/L Linalool	5/12	-
+ 5 μg/L Citronellol	3 μg/L Linalool	9/12	0.01
3 μg/L Linalool	3 μg/L Linalool	9/12	0.01
+ 5 μg/L Geraniol	3 μg/L Linalool	9/12	0.01
+ 5 μg/L Citronellol	3 μg/L Linalool	9/12	0.01

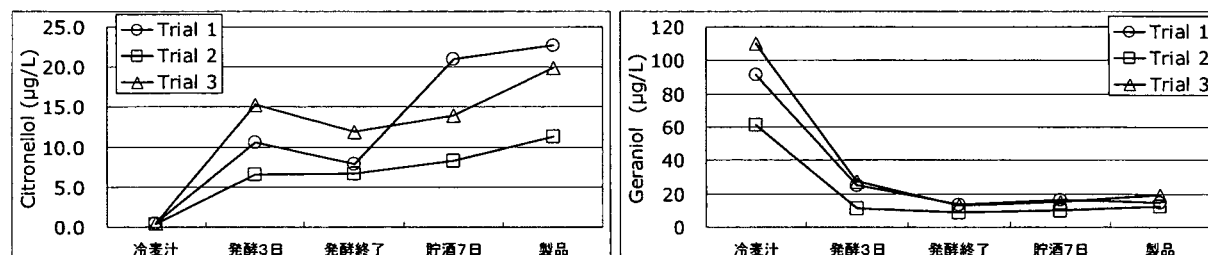
ビール(国内市販ビール)		3点試験法	
試験	対照	正解者/全パネル	p
5 μg/L Linalool	5 μg/L Linalool	5/12	-
+ 5 μg/L Geraniol	5 μg/L Linalool	8/12	0.05
5 μg/L Linalool	5 μg/L Linalool	8/12	0.05
+ 5 μg/L Citronellol	5 μg/L Linalool	8/12	0.05
5 μg/L Linalool	5 μg/L Linalool	8/12	0.05
+ 5 μg/L Geraniol	5 μg/L Linalool	8/12	0.05
+ 5 μg/L Citronellol	5 μg/L Linalool	8/12	0.05

※Linalool添加量は各々、モデル液、ビール中でのLinaloolの推定閾値（同じパネル集団による）。  
Geraniol、Citronellolの添加量は図4の製品中濃度に準じる。

図4の製品ビール中の Geraniol、Citronellol 含量はいずれも約 5 μg/L であり、閾値（Geraniol: 6 μg/L、Citronellol: 8-9 μg/L と推定）より低く、各々単独での3点試験法では有意には識別されない量である。それに対し、表3に示した通り、対照、試験とも閾値量の Linalool を含む系に 5 μg/L の

Geraniol、Citronellol を単独、もしくは両方添加した 3 点試験法では、特に 3 成分全てを含む添加区はモデル液、ビールのいずれにおいても有意に識別され、これらの香気が Linalool の共存によりエンハンスされている可能性が示唆された。このことから、閾値を下回る  $5 \mu\text{g/L}$  程度の Geraniol、Citronellol でも Linalool との相互作用により製品ビールの香味に寄与し得ると推察された。

この知見の応用性を確認するため、品種間差の大きい Geraniol に着目したスクリーニングを行ない、高 Geraniol ホップとして Citra を選抜した。Citra は米国で 2007 年に品種化された新品種であり、ビールに独特のライム様の香気を付与するとされる。このホップを用いた試験醸造において、図 4 と同様の挙動追跡を行なった (図 5)。



※Trial 1: 全麦芽ビール(香り付け0.8g/L), Trial 2: 発泡酒(香り付け0.4g/L), Trial 3: 発泡酒(香り付け0.8g/L)

図 5 ビールの発酵過程でのテルペンアルコール挙動 (Citra)

その結果、Citra ホップを  $0.8\text{g/L}$  香り付けに使用した場合、初発の Geraniol 含量は  $100 \mu\text{g/L}$  前後まで高くなった。Geraniol、Citronellol の挙動は図 4 と同様であったが、製品での Geraniol、Citronellol 含量は約  $20 \mu\text{g/L}$  まで増加した。この結果より、初発の Geraniol を増加させることで製品中の Geraniol、Citronellol 量を制御できると推察された。

さらに、これらの成分の香気への影響を確認するため、Trial 1 の製品中の Linalool、Geraniol、Citronellol 含量を模したモデル液でのプロファイルの検討も行なった (図 6)。

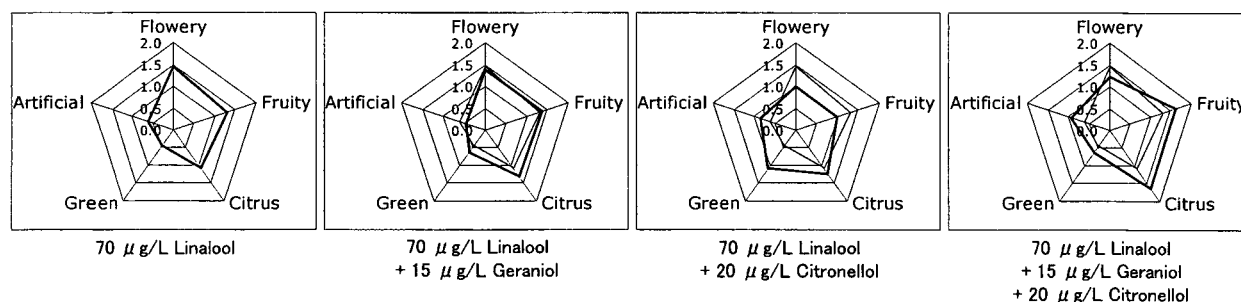


図 6 モデル溶液中での香気プロファイルの比較 (細線は Linalool 単独のプロファイル)

その結果、Linalool 単独の場合と比べ、Geraniol、Citronellol 単独での添加でも香気プロファイルには変化が認められ、3 成分が混在したモデル液で「フルーティ」「シトラス」な特徴が最も高くなる傾向が確認された。これらの結果から、新品種 Citra を用いたビールで感じられるライム様の香気には、Linalool、Geraniol、Citronellol の相互作用が寄与していると考えられた。

本研究の結果より、ホップの呈するライム様の香気には、ホップが Linalool、Geraniol を豊富に含むだけでなく、その Geraniol が酵母の代謝で Citronellol に変換されることが重要であることが示唆された。

## 【おわりに】

本研究は、ビール醸造におけるホップの品種特有香に寄与する香気成分と、品種香の発現メカニズムの解明を目的とし、以下の成果を得た。

- ・各々、特有の香りをビールに付与するホップ、Nelson Sauvin (NNS)、Citra に着目し、その寄与成分として、NNS では新規チオール 3S4MP、3S4MPA およびイソ酪酸エステル 2MIB、Citra では Linalool、Geraniol、Citronellol の寄与を明らかにした。
- ・簡便な 3 点試験法とプロファイル法の組合せにより、複数の香気成分から品種特有香が形成されるメカニズムを推察した。

今回見出した香気成分のうち、キーとなる 3S4MP、Geraniol は原料ホップに含まれるため、ホップの分析でビールの香気を予測できる指標としてビール醸造、ホップ育種への活用が期待できる。また、今回用いた官能評価手法は、今後の同様の研究にも活用でき、今後のホップ香研究に寄与できるものと考えている。

## 【原著論文】

- 1) Takoi, K., Tominaga, T., Degueil, M., Sakata, D., Kurihara, T., Shinkaruk, S., Nakamura, T., Maeda, K., Akiyama, H., Watari, J., Bennetau, B., Dubourdieu, D.; *Proceedings of the 31st European Breweries Convention Congress (CD-ROM)*, **2007**, 241-251.
- 2) Takoi, K., Degueil, M., Shinkaruk, S., Thibon, C., Maeda, K., Ito, K., Bennetau, B., Dubourdieu, D., Tominaga, T.; *J. Agric. Food Chem.*, **2009**, 57, 2493–2502.
- 3) Takoi, K., Degueil, M., Shinkaruk, S., Thibon, C., Kurihara, T., Toyoshima, K., Ito, K., Bennetau, B., Dubourdieu, D., Tominaga, T.; *Brewing Science*, **2009**, 62, 108–118.
- 4) Takoi, K., Koie, K., Itoga, Y., Katayama, K., Shimase, M., Nakayama, Y., Watari, J.; *J. Agric. Food Chem.*, **2010**, 58, 5050-5058.
- 5) Takoi, K., Itoga, Y., Koie, K., Kosugi, T., Shimase, M., Katayama, K., Nakayama, Y., Watari, J.; *J. Inst. Brew.*, **2010**, 116, (in press).
- 6) 蛸井 潔, 富永 敬俊, Degueil, M., 坂田 大介, 栗原 利夫, Shinkaruk, S., 中村 剛, 前田 雄明, 秋山 普史, 渡 淳二; *日本味と匂学会誌*, **2007**, 14, 463–466.
- 7) 蛸井 潔, Degueil, M., Shinkaruk, S., 前田 雄明, 伊藤 一敏, Bennetau, B., Dubourdieu, D., 富永 敬俊; *日本味と匂学会誌*, **2008**, 15, 579–582.
- 8) 蛸井 潔, 鯉江 弘一朗, 糸賀 裕, 片山 雄大, 島瀬 雅行, 小杉 隆之, 中山 康行, 渡 淳二; *日本味と匂学会誌*, **2009**, 16, 641–644.

## 論文審査結果要旨

本論文は、ビール製造に用いられるホップの品種特有香指標成分の探索及び香気成分の相互作用評価系の確立に関する研究であり、六章より成る。

第一章で、ホップの品種特有香研究の現状と本研究の目的について記述した後、第二章と第三章において、グレープフルーツ様の品種特有香をビールに付与するとされるホップ品種であるニュージーランド産の Nelson Sauvín から、特有の香気成分として新規チオール化合物[3-sulfanyl-4-methylpentan-1-ol (3S4MP)と 3-sulfanyl-4-methylpentyl acetate (3S4MPA)]及び 2-methylbutyl isobutyrate (2MIB)を発見するとともに、簡便な 3 点試験法とプロファイル法を組み合わせることにより、低閾値の鍵成分 3S4MP がビール中の存在量が閾値以下である 3S4MPA, 2MIB, 更には linalool, geraniol 等のホップ由来香気成分に対するエンハンサーとしても機能し、総合的に Nelson Sauvín の品種特有香を形成していることを明らかにしている。

第四章と第五章においては、モノテルペンアルコール (linalool, geraniol,  $\beta$ -citronellol) の発酵挙動とそのビール香気への寄与について検討し、その知見を基にして、高 geraniol ホップ品種として Citra を選抜し、そのライム様の品種特有香に対する linalool, geraniol,  $\beta$ -citronellol の寄与を明らかにしている。また、モノテルペンアルコールの中で最も閾値が低い linalool が鍵成分となり、geraniol とその酵母による代謝変換によって生成する  $\beta$ -citronellol の香気がエンハンスされ、これら 3 成分の共存により、Citra に代表される高 geraniol ホップのライム様柑橘香が形成されていることを見出している。

第六章では、総合考察として、第 1 章で設定した 3 つの研究目的 (1.ホップの品種特有香の指標成分を探索すること; 2. 香気成分の相互作用の評価系を確立すること; 3. それらの知見をホップの選択や育種に活用すること。)に照らして、本研究の結果について、そのビール醸造上の意義について議論を展開し、原料ホップの分析を行なってビールの香気を予測することにより、ビール醸造、ホップ育種への活用が期待できると結論づけている。

本研究は、これまで未解明の部分が多かった、ホップ品種ごとの香の違いに寄与する香気成分を解明するとともに、ホップ由来香気成分のビール醸造中における挙動に関する知見を得ている。それに加えて、複数の香気成分の相互作用の影響を適切に評価できる評価系を提示しており、ビール醸造に関する研究領域に対する貢献は大きいと言える。よって、審査委員一同は、本論文が博士の学位に値する研究であると判断した。